

Aus der Medizinischen Klinik der Universität
Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

**Neuere Erkenntnisse
über die zelluläre Zusammensetzung
des strömenden Blutes
bei Gesunden und Kranken**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von:
Regine Czagány, geb. Reschke
aus Berlin-Charlottenburg

1965

1967 № 239



Dekan: Prof. Dr. Dr. med. G. Steinhardt

Referent: Prof. Dr. med. H. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1965

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Seinerzeit. Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning)

Selten vorkommende Zellen im Blut

Mit 63 Abbildungen

Von Siegfried WITTE, Dietrich BRESSEL und Regine CZAGÁNY

Unsere Vorstellung über die zelluläre Zusammensetzung des strömenden Blutes orientiert sich im allgemeinen am Wissen über den Blutausschlag mit seinen bekannten pathologischen Abweichungen. Vor einigen Jahren hat die hämatologische Forschung begonnen, sich mit einer Tumorzellsuche im peripheren Blut zu befassen. Im Rahmen dieser Arbeiten wurden neuartige Erkenntnisse über das Vorkommen seltener Zellen im strömenden Blut gewonnen.

Die hierbei verwendete Methode ist die *Leukozytenanreicherung*. In der folgenden Arbeit sollen ungewöhnliche Zellen im Blut von Gesunden und Patienten mit verschiedenen Erkrankungen demonstriert werden, um einen Einblick in die Vielfalt der zytologischen Befunde zu geben.

Methodik

In einem ersten Schritt müssen die Erythrozyten von den übrigen Zellelementen des Blutes abgetrennt werden. Hierzu stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung.

So kann man die Erythrozyten durch Hämolyse mit hypotonen Lösungen eliminieren. Hierzu gehören Essigsäure (26), Saponin (7) und das Enzym Streptolysin-O (27). Nach Meinung von SOOST u. MAD (34) verursacht Saponin in richtiger Dosierung die geringsten Läsionen an Leukozyten und Tumorzellen. Auch ERIKSSON (8) verwendet Saponin und reichert die kernhaltigen Zellen des Blutes nach Zentrifugieren auf einem schräg gestellten, paraffinierten Objektträger an. Er erzielt damit seinen Angaben nach eine hohe Ausbeute an seltenen Zellen. MALMGREN u. Mitarb. (21) wandten als erste Streptolysin-O an. Sie filtrieren die intakt gebliebenen kernhaltigen Zellen durch Mikroporenfilter.

Nach Berichten von PRUITT u. Mitarb. (27) ergeben die Hämolyse der Erythrozyten und die fermentative Auflösung der Leukozyten durch Streptolysin-O sehr gute Ergebnisse bei der Suche nach Tumorzellen.

Zur Anreicherung kernhaltiger Elemente des Blutes kommt neben der Millipore-Filtermethode (21) die sog. Flotationstechnik nach SEAL (33) in Betracht. Sie bedient sich der unterschiedlichen spezifischen Gewichte verschiedener Zellarten. So mischt beispielsweise GRAEBER (11) Na. citricum-versetztes Blut mit Polyvinylpyrrolidin, unterschichtet mit Silikonöl und reichert die Tumorzellen in der Grenzschicht an. ROBERTS u. Mitarb. (28) arbeiten ebenfalls nach der Flotationsmethode, verwenden aber als Ausgangsmaterial Rinderalbumin- und Fibrinogenlösungen. SOOST (35) verbindet eine Hämolyse des zu untersuchenden Blutes mit der Flotationsmethode. Er schichtet PVP (Polyvinylpyrrolidin)-Lösung mit heparinisiertem Blut über Silikonöl, hämolysiert die Erythrozyten und zerstört einen Teil der Leukozyten mit Streptolysin-O-Lösung, filtriert und färbt die Filtermembran.

Ferner benutzt man zur Anreicherung der kernhaltigen Zellen das Sedimentationsverfahren. Nach Vorschlägen von MOORE u. Mitarb. (23, 24) kann man die Erythrozyten nach Mischen nativen, heparinisierten Blutes mit Rinderfibrinogen sedimentieren lassen, das überstehende mit Leukozyten angereicherte Plasma zentrifugieren und das Sediment zur Herstellung von Leukozytenanreicherungen benützen. SPRIGGS u. ALEXANDER (38) haben Heparin durch Äthylendiamin-Tetraessigsäure ersetzt. Bei der Suche nach Tumorzellen schichten sie mit Leukozyten angereichertes Plasma über das gleiche Volumen Rinderalbumin und engen ihr Material in verschiedenen Arbeitsgängen weiter ein.

Wir selbst haben zur Anreicherung der kernhaltigen Zellen des strömenden Blutes das Sedimentationsverfahren in Anlehnung an methodische Vorschläge von ALEXANDER u. SPRIGGS (1) verwendet.

Zur Vermeidung von mechanischen Verletzungen der Zellen werden zur Blutentnahme innenpolierte V₂A-Kanülen verwendet, und das gesamte Arbeitsbesteck wird silikonisiert. 4 ccm Patientenblut werden in einer Spritze aspiriert, in der 1 ccm 6%iges Dextran vorgelegt wurde. Als Antikoagulans enthält das Dextran 45 E. Heparin/ml. Die Blutentnahme erfolgt in der Regel aus der Kubitalvene des Patienten. Sofort im Anschluß an die Blutentnahme mischt man den Inhalt der Spritze durch mehrfaches vorsichtiges Kippen und gibt ihn dann in ein silikonisiertes, aufrecht stehendes Reagenzglas. Die Sedimentation der Erythrozyten hängt von der Blutkörperchenkungsgeschwindigkeit des Patienten ab. Meistens ist sie nach 30 Min. genügend weit fortgeschritten. Ein längeres Abwarten ist wegen der Gefahr einer Teilsedimentation der kernhaltigen Zellen nicht vorteilhaft. Man pipettiert das überstehende Plasma ab und zentrifugiert es 10 Min. lang bei 1000 Umdrehungen/Min. Der zellfreie Plasmaanteil wird verworfen, das Sediment mit einem silikonisierten Glasstab vorsichtig aufgerührt, auf 6 Objektträger verteilt und dünn ausgestrichen. Da wir bei der Färbung der Präparate mit der klassischen Pappenheimschen Methode gelegentlich eine Überfärbung von Zellen in Kauf nehmen mußten, beschränkten wir später die Einwirkung der May-Grünwald-Lösung auf 3 Min., färbten dann 5 Min. mit 1:1 verdünnter May-Grünwald-Lösung und verminderten den Anteil der Giemsa-Lösung im letzten Arbeitsgang auf 1 Tropfen/1 ccm bei einer Einwirkungsdauer von 10 Min. Dieser relativ einfachen Methodik folgt nun die zeitraubende Auswertung der Präparate. Der ganze Ausstrich wurde mit 80facher Vergrößerung durchmustert. Auffallende Zellen haben wir bei 800facher Vergrößerung differenziert und photographiert*.

* Adox KB 14, Filmausschnitte etwa 1,8fach linear vergrößert, Agfacolor, Abb. 2,2fach vergrößert.

Ergebnisse

Wir untersuchten das Blut von 12 Gesunden sowie 88 Patienten mit folgenden Erkrankungen:

Chron. Myelose 3, chron. Lymphadenose 3, Polyzythämie 1, Osteomyelosklerose 7, lymphoidzellige Retikulosen 5, M. WALDENSTRÖM 1, M. HODGKIN 8, M. PFEIFFER 1, Siderophilie 1, Lupus erythematoses dissemin. 1, Septikämie 1, Leberparenchymkrankheiten 10, Pleuritis 1, Harnwegsinfektion 1, Aktinomykose 1, Malignome 43.

Zur besseren Übersicht sind die aufgefundenen seltenen Zellen entsprechend ihrer Herkunft nach Zellsystemen geordnet. Im einzelnen werden beschrieben: Erythropoese, Myelopoese, Megakaryozyten, Abkömmlinge des retikulo-histiozytären Systems, tumorverdächtige Zellen und Zellen, deren Herkunft nicht sicher bestimmbar ist.

Erythropoese

Das Auftreten von Vorstufen der Erythrozyten im peripheren Blut stellt an sich keine Besonderheit dar. Dagegen sind *Normoblastenmitosen* im strömenden Blut als ausgesprochene Rarität zu werten. Wir fanden bei je einem Patienten mit Osteomyelosklerose und mit chronischer Myelose, beide mit Splenomegalie und starker extramedullärer Hämatopoese, Mitosen in fast allen Reifungsstadien der Erythropoese (Abb. 1—5). Im Vergleich zu den übrigen Zellen der Erythropoese lassen die Teilungsformen häufig eine feine dunkelblaugraue Schummerung des Zytoplasmas erkennen, die mit fortschreitendem Teilungsvorgang wieder verlorengeht. Ganz vereinzelt haben wir *zweikernige Normoblasten* gesehen (Abb. 6).

In der uns zugänglichen Literatur findet sich nur ein Hinweis auf Erythroblastenmitosen im Blut. Bei der akuten Erythromegakaryozythämie treten nach KRICK (17) sowohl im peripheren Blut als auch im Knochenmark atypische Erythroblastenformen und Mitoseanomalien, nicht selten auch mit megaloblastenähnlicher Kernstruktur, auf.

GROSS u. BOCK (12) beschreiben die Ausschwemmung von Normoblasten und Erythroblasten bei intensiver granulozytärer Linksverschiebung, bei langsam einsetzender extramedullärer Myelopoese, etwa im Rahmen osteomyelosklerotischer oder -fibrotischer Prozesse, sowie bei Einbruch von Tumormetastasen ins Knochenmark.

Über die *Ausschwemmung unreifer Zellen aus ihren Bildungsstätten* herrscht noch immer keine einheitliche Meinung. Nach ROHR (29) gilt es als erwiesen, daß die Gefäße der Milz mit der Pulpa in offener Kommunikation stehen und insbesondere die venösen Sinusoide durchlöchert sind. Das Blut der Sinus habe demnach freien Zutritt zum Pulpagewebe; je nach dem funktionellen Zustand der diese venösen Sinus umschließenden Ringfasern könne die Gefäßbahn entweder völlig geschlossen oder offen sein. Bei myeloischer Metaplasie der roten Milzpulpa stehe dem Austritt von Blutzellen, auch dem passiven Übertritt unreifer, nichtbewegungsfähiger Formen, von seiten des Gefäßsystems nichts im Weg.

Bei der Ausschwemmung der Leukozyten aus dem Knochenmark müsse es sich um einen aktiven Vorgang der reifen Granulozyten handeln, der auf

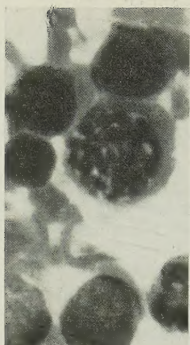


Abb. 1

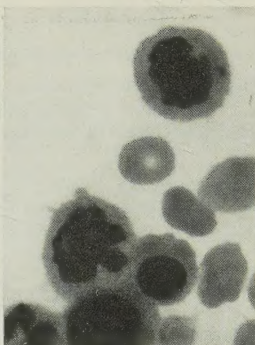


Abb. 2



Abb. 3



Abb. 4

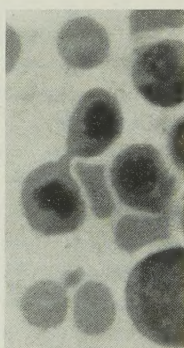


Abb. 5

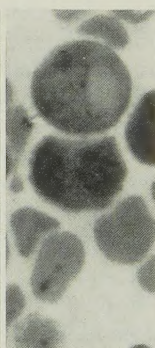


Abb. 6

Abb. 1—6. Verschiedene Stadien der Mitose von Normoblasten.

1. Makroblast in Prophase. 2. Normoblasten in Prophase. 3. Normoblast in Metaphase. 4. Normoblast in Anaphase. 5. Normoblasten in Telophase. 6. Zweikerniger Normoblast.

deren Eigenbeweglichkeit zurückzuführen sei (29). Nach neueren Auffassungen, die RUEFF (31) kürzlich mitteilte, spiele der Reifungsprozeß der Zellmembran eine entscheidende Rolle. Mit Hilfe von zellelektrophoretischen Untersuchungen konnte er nachweisen, daß die unreifen Vorstufen der weißen Blutkörperchen im Knochenmark eine höhere negative Überschußladung besitzen als die reifen Zellen im peripheren Blut. Es sei demnach anzunehmen, daß die weiße Blutzelle im Verlauf ihres Reifungsprozesses relativ sprunghaft einen Verlust an negativer Überschußladung erleidet. Über die Art des chemischen Vorgangs, der die Potentialverminderung an der Zelloberfläche bedingen würde, seien noch keine Aussagen möglich. Es sei auch noch nicht zu entscheiden, was bei den beiden Phänomenen des Potentialsprungs an der Zelloberfläche und des Zellaustritts aus der Bil-

dungsstätte ins periphere Blut Ursache und Wirkung sei; jedoch sei es möglich, daß die Veränderungen an der Zelloberfläche, die den Potentialsprung bewirken, unter physiologischen Bedingungen den Austritt der Zellen aus ihren Bildungsstätten zur Folge haben und somit die Zellausschwemmung regeln. Unter pathologischen Bedingungen, d. h., wenn auch unreife Leukozyten im Blut vorkommen, müßte dann dieser Mechanismus versagen.

Inwieweit sich diese Auffassung auch auf die Ausschwemmung kernhaltiger Zellen der roten Reihe aus den Stätten ihrer Bildung anwenden läßt, ist noch nicht bekannt.

Myelopoese

Bei Patienten mit chronischer Myelose fanden wir unter den Vorstufen der Myelopoese *zweikernige Myelozyten* (Abb. 7), kenntlich an ihrer schon überwiegend neutrophilen Granulation. Eine zweikernige Zelle im Stadium des Metamyelozyten bis Stabkernigen entdeckten wir im Fall eines Bronchialkarzinoms (Abb. 8). Bei einem Patienten mit Panmyelophthase fielen uns einzelne reifere Formen der weißen Reihe durch leuchtend rot angefärbte Chromatinanteile und durch ein randständig vakuolig aufgelockertes Protoplasma auf (Abb. 9). *Regressiv veränderte Vorstufen der Myelopoese* sind uns bei Tumorkranken begegnet, z. B. als Kernvakuolisierung (Abb. 10) oder als mehrfach gekerbte Kerne mit Chromatinabsprengungen (Abb. 11).

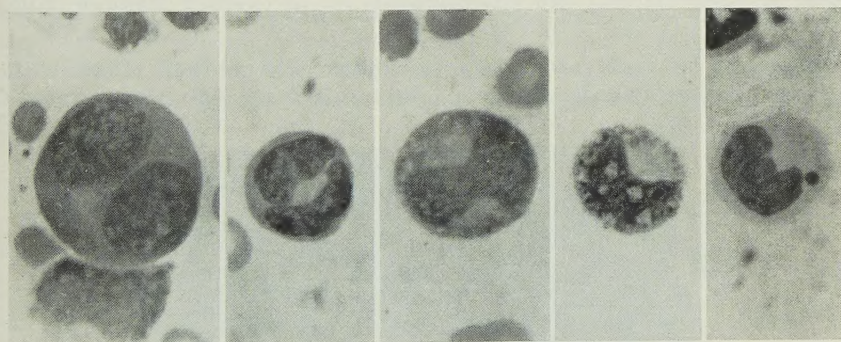


Abb. 7

Abb. 8

Abb. 9

Abb. 10

Abb. 11

Abb. 7—11. Auffallende Zellen der Granulopoese-Reihe.

7. Zweikerniger Myelozyt. 8. Zweikernige Zelle im Stadium des Metamyelozyten. 9. Metamyelozyt mit Plasmavakuolisierung. 10. Regressiv veränderter Metamyelozyt mit Kernvakuolisierung. 11. Atypischer Metamyelozyt mit Kernabsprengung.

Die *intravasale Phagozytose-tätigkeit der Leukozyten* kommt besonders schön in einer rosettenförmigen Anordnung um zugrunde gegangene Zellen zur Darstellung (Abb. 12). Dieses Bild sahen wir bei einem Kranken mit Blasen-

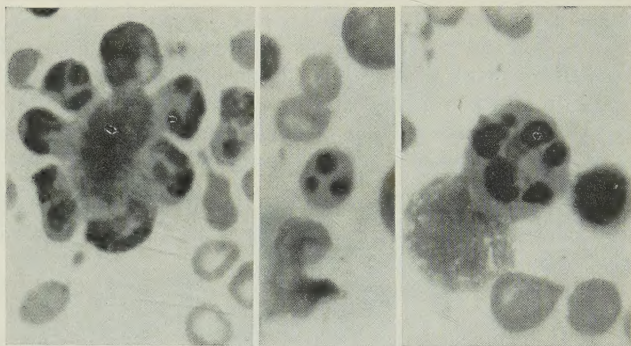


Abb. 12

Abb. 13

Abb. 14

Abb. 12: Rosettenphänomen von segmentkernigen Leukozyten in Phagozytose um einen großen Zellrest.

Abb. 13: Abbauf orm eines segmentkernigen Leukozyten.

Abb. 14: Tetraploider reifer Granulozyt.

karzinom. Leider kann die Frage, ob hier eine Tumorzelle phagozytiert wird, wegen starker regressiver Veränderungen nicht beantwortet werden. *Abbauf ormen von Leukozyten* begegneten wir bei extramedullärer Hämatopoese, beispielsweise in einer atypisch segmentierten Zelle (Abb. 13) sowie in einem tetraploiden reifen Granulozyten (Abb. 14). *Vorstufen der Myelopoese in Mitose* fanden sich ausschließlich bei chronischer Myelose (Abb. 15—17).

Insgesamt ist die Myelopoese in verhältnismäßig geringem Ausmaß am Auftreten ungewöhnlicher Zellen im Blutkreislauf beteiligt.

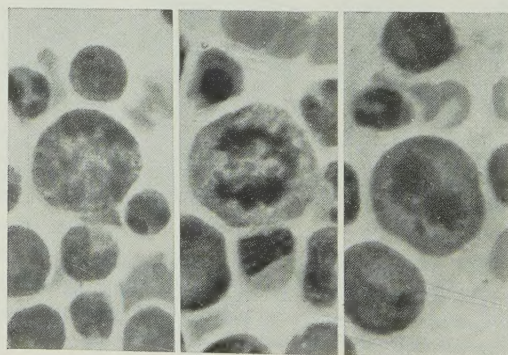


Abb. 15

Abb. 16

Abb. 17

Abb. 15—17: Verschiedene Stadien der Mitose von myeloischen Zellen.

15. Unreife myeloische Zelle in Prophase. 16. Unreife myeloische Zelle in Anaphase. 17. Unreife myeloische Zelle in früher Telophase.

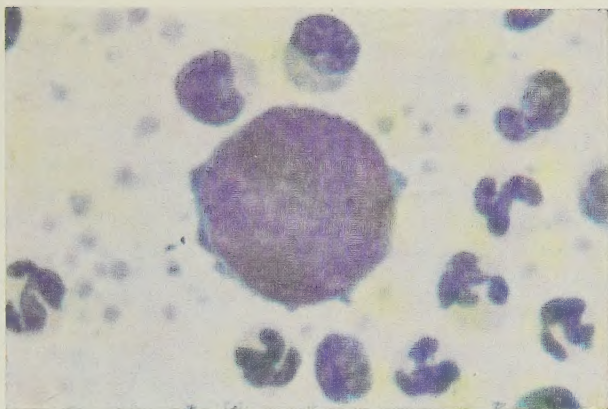


Abb. 18: Megakaryoblast mit multiplen Nukleolen.

Megakaryozyten

Eine wahre Fundgrube für Megakaryozyten ist das strömende Blut von Patienten mit ausgeprägter extramedullärer Hämatopoese. Wir fanden *Megakaryozyten aller Reifungsstadien* insbesondere bei Kranken mit Osteomyelosklerose und mit chronischer Myelose. Abb. 18 zeigt einen Megakaryoblasten mit schmalen, basophilem Zytoplasma und multiplen, oft unscharf in Erscheinung tretenden Nukleolen. Beim Promegakaryozyten (Abb. 19) hat die Kern-Plasmarelation zugunsten des Plasmas abgenommen. Megakaryozyten begegneten uns in einer Größe bis zu $250\ \mu$ im Durchmesser (Abb. 20). Die zunehmende Kernverdichtung und Abschnürung von



Abb. 19

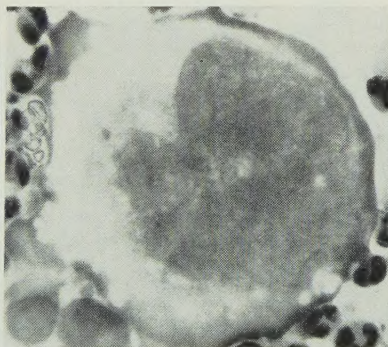


Abb. 20

Abb. 19: Promegakaryozyt.

Abb. 20: Riesengroßer Megakaryozyt mit einem Zelldurchmesser von $150\ \mu$.

einzelnen Kernsegmenten bei den reifen Megakaryozyten kommt in den Abb. 21 und 23 zum Ausdruck. Nacktkernige Megakaryozyten (Abb. 22) und hyperchrome dichte Kernsegmente (Abb. 24) sind keine Seltenheit. Sie begegneten uns auch in den Leukozytenanreicherungen von Gesunden. *Vorstufen der Megakaryozyten* treten im strömenden Blut oft *regressiv verändert* auf. Hierbei wird bei den Megakaryoblasten in erster Linie der Kern bis zum völligen Schwund betroffen (Abb. 25), während bei den reiferen Formen die gesamte Zelle regressiv verändert erscheint (Abb. 26). Als Rarität haben wir eine *Megakaryozytenmitose* beobachtet (Abb. 27).

Erst in den letzten Jahren ist es gelungen, die Entwicklungsreihe der Megakaryozyten von Megakaryoblasten bis zu pyknotischen Kerntrümmern lückenlos im strömenden Blut nachzuweisen (5). Wüst (42)



Abb. 21

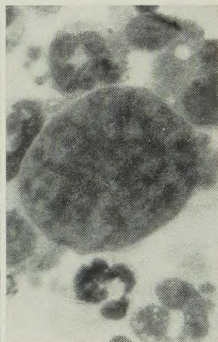


Abb. 22

Abb. 21: Fast nacktkerniger Megakaryozyt mit starker Kernlappung.

Abb. 22: Nacktkerniger Megakaryozyt.

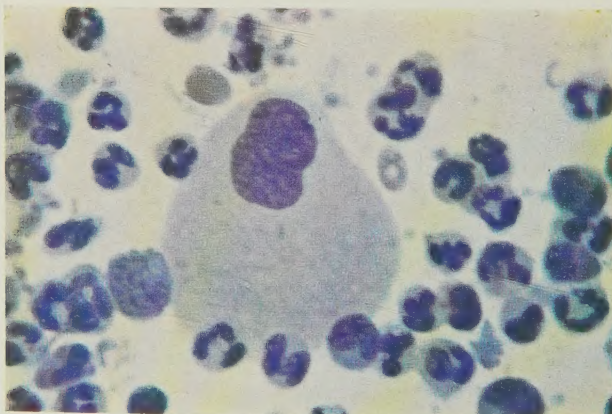


Abb. 23: Reifer Megakaryozyt.

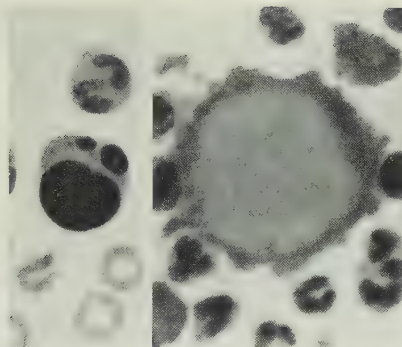


Abb. 24

Abb. 25

Abb. 24: Hyperchrome Kernreste eines Megakaryozyten.

Abb. 25: Regressiv veränderter Megakaryozyt mit Kernschwund.

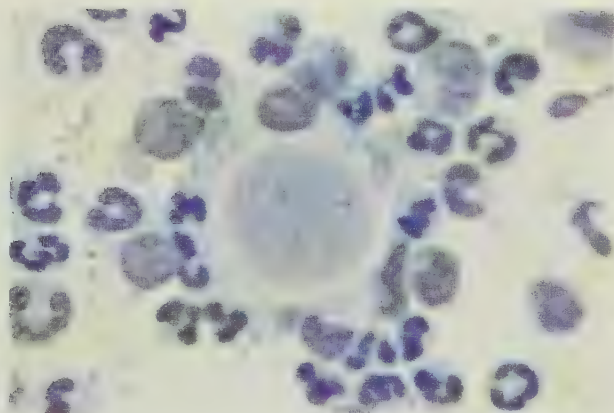


Abb. 26: Abbauf orm eines jugendlichen Megakaryozyten mit Karyolyse.

untersuchte mit Hilfe der Flotationstechnik insbesondere das Vorkommen der Megakaryozyten im peripheren Blut. Eine wichtige Entdeckung der letzten Jahre, die wir in der vorliegenden Arbeit bestätigen, ist das Auftreten von Kernen oder pyknotischen Kernsegmenten von Megakaryozyten auch im Blut Gesunder. EFRATI u. ROSENSZAJN (5) sowie BRESSEL u. WITTE (3) fanden Kerne und Kerntrümmer dieser Zellen regelmäßig bei gesunden Menschen. STÖFBERG (41) sah Megakaryozytenkerne sogar in 60 % der untersuchten gesunden Personen, allerdings selten intakte Zellen, überwiegend Kernreste. Sie wurden regelmäßig in der Nähe von Thrombozytenkonglomeraten gefunden.

Vorstufen und intakte reife Megakaryozyten kommen fast ausschließlich bei Osteomyelofibrose und mit starker extramedullärer Hämatopoese einhergehender myeloischer Leukämie in größerer Anzahl im Blut vor (2). Die Ansicht von SCHWARZ (39), wonach ihr Auftreten bei chronischer Myelose als überschießende Aktivität des myeloischen Gewebes gedeutet wird und die Myeloblasten als ihre Mutterzelle bezeichnet werden, erscheint uns fragwürdig. Nach Milzexstirpation beobachtete FLEISCHER (9) zahlreiche Megakaryozyten mit den Zeichen der Polymorphie und Anisozytose.

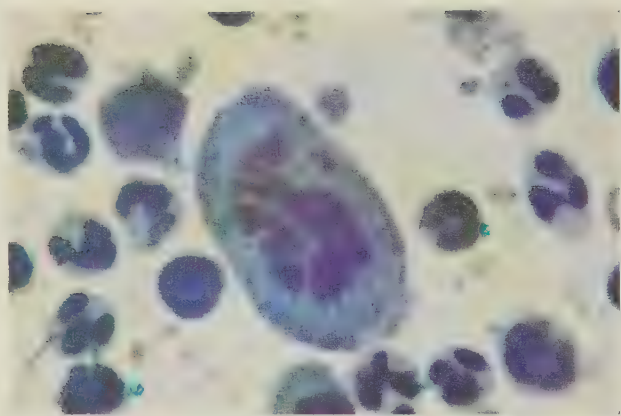


Abb. 27: Megakaryozytenmitose (s. Abb. 41).

Abkömmlinge des retikulo-histiozytären Systems

Unter den im strömenden Blut kreisenden Abkömmlingen des retikulo-histiozytären Systems fanden sich Plasmazellen, basophile Retikulumzellen, Histiozyten und Monozyten.

Die reaktive Vermehrung des Retikulums im Knochenmark bei allen möglichen Krankheitsprozessen ist ein bekannter Befund. Unsere Untersuchungen zeigen, daß dieses krankheitsunspezifische Verhalten des Retikulums auch im strömenden Blut in verschiedenen Formen erfaßt werden kann, sei es als plasmazelluläre oder als retikuläre Reaktion im engeren Sinne mit basophilen Retikulumzellen, als histiozytäre Reaktion oder seltener als vermehrtes Auftreten monozytärer Zellen. Die reaktive Vermehrung der einzelnen Untergruppen des retikulo-histiozytären Systems ist unserer Meinung nach eine der bemerkenswertesten neueren Erkenntnisse über die Zusammensetzung des Blutes unter krankhaften Bedingungen, wobei wir nicht wissen, wieso bei verschiedenen Krankheiten oder auch bei verschiedenen Patienten mit derselben Erkrankung die eine oder die andere Zellart überwiegt.

Nicht nur bei Patienten mit bösartigen Geschwülsten, auch bei den Systemkrankheiten des Blutes stößt man auf eine Vermehrung von Zellen, die dem retikulo-histiozytären System angehören. Wie schon HENNING, WITTE u. BRESSEL (15) geäußert haben, kann es sich deshalb nicht um eine karzinomspezifische Reaktion handeln.

Plasmazellen

Die Vorstufen der Plasmazellen sind an ihrem leuchtend blauen Zytoplasma zu erkennen. Der *Plasmoblast* zeichnet sich durch eine hohe Kern-

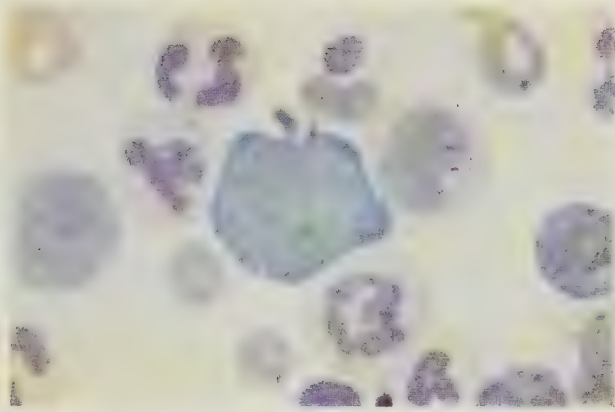


Abb. 28: Plasmazytoblast mit solitärem Nukleolus.

Plasmarelation, zartes Chromatin und Nukleolen aus (Abb. 28). Der *Proplasmazyt* ist größer als der Plasmoblast, sein Kern ist im Verhältnis zum Plasma kleiner und dichter, die Nukleolen fehlen (Abb. 29). Von den reifen Plasmazellen soll hier nur eine seltenere Form, mit Sekretvakuolen angefüllt, erwähnt werden, die wir bei einem Patienten mit Leberzirrhose sahen (Abb. 30).

Plasmazelluläre Reaktionen kommen vorwiegend bei Kranken mit bösartigen Geschwülsten vor. In diesem Rahmen trifft man hin und wieder auf Abbaufornen von Plasmazellen mit zusammengesintertem Chromatin (Abb. 31) sowie auf mehrkernige Plasmazellen (Abb. 32).

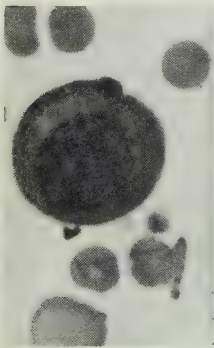


Abb. 29

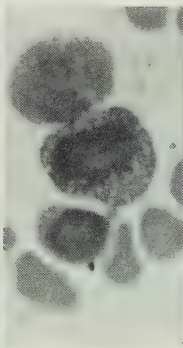


Abb. 30

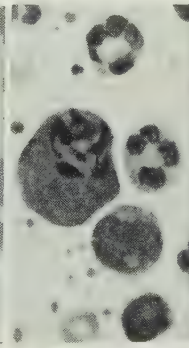


Abb. 31

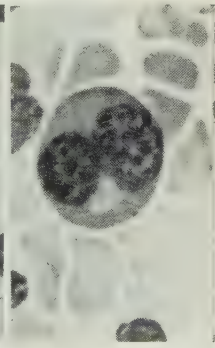


Abb. 32

Abb. 29: Proplasmazyt. Abb. 30: Plasmazelle mit Sekretvakuolen. Abb. 31: Regressiv veränderte Plasmazelle. Abb. 32: Zweikernige Plasmazelle.

Basophile Retikulumzellen

Bei den Systemkrankheiten des Blutes und bei malignen Tumoren begegneten wir häufiger einer *retikulo-histiozytären Reaktion* im strömenden Blut. Ihre bemerkenswertesten Vertreter sind die *basophilen Retikulumzellen* mit intensiv basophilem Zytoplasma, zartem, retikulärem Chromatin und dichten, blauen Nukleolen (Abb. 33). Die Zellen zeigen gelegentlich morphologische Übergänge zu Plasmazellen mit randständiger Verlagerung des Kernes und Auftreten eines perinukleären Hofes (Abb. 34). Zweikernige basophile Retikulumzellen (Abb. 35) sind bei reaktiver Vermehrung der Abkömmlinge des Retikulums im strömenden Blut keine Seltenheit. Dane-

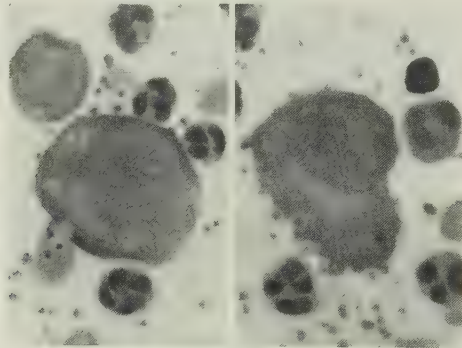


Abb. 33

Abb. 34

Abb. 33: Basophile Retikulumzelle.

Abb. 34: Basophile, plasmazellähnliche Retikulumzelle.

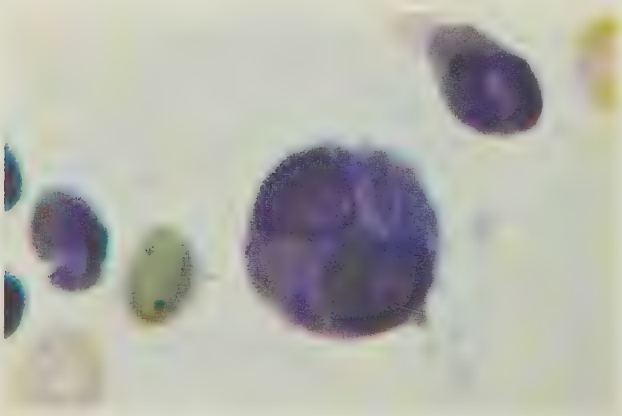


Abb. 35: Basophile zweikernige Retikulumzelle.

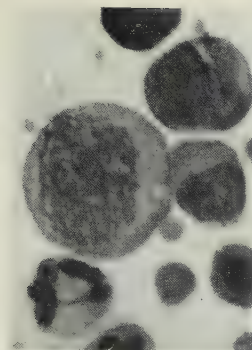


Abb. 36

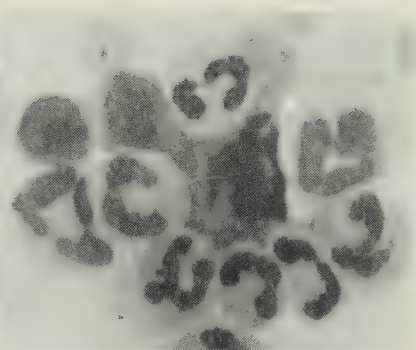


Abb. 37

Abb. 36: Basophile Retikulumzelle in Prophase.

Abb. 37: Basophile Retikulumzelle in Metaphase

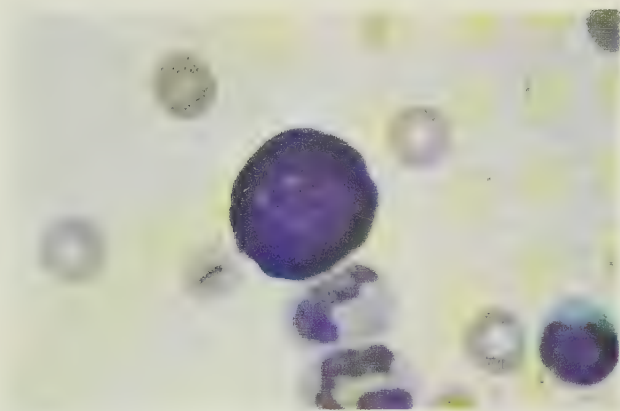


Abb. 38: Mastzelle im Blut.

ben findet man *Mitosen* in verschiedensten Verlaufsstadien (Abb. 36, 37). Als auffallenden Sonderbefund beschreiben wir erstmals das Vorkommen einer typischen *Gewebsmastzelle im Blut* (Abb. 38).

Monozyten

Die reaktive Retikuloze im strömenden Blut kann auch als selektive Vermehrung von Monozyten zum Ausdruck kommen. Abb. 39 zeigt einen *Monozytoblasten*, kenntlich an seiner dichten azurophilen Granulation. In Abb. 40 ist eine dreikernige monozytoide Zelle von einem Kranken mit Ösophaguskarzinom dargestellt. Auch *Mitosen* von Monozyten im Blut kann man finden (Abb. 41).

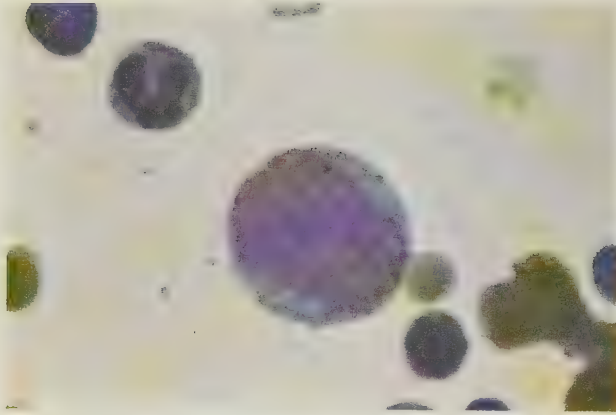


Abb. 39: Monozytoblast.

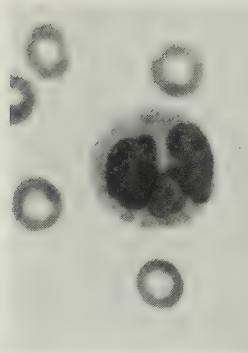


Abb. 40

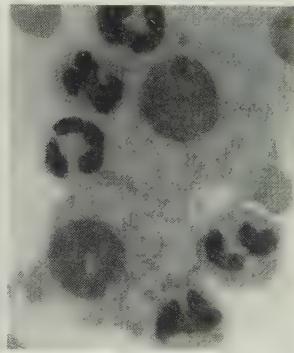


Abb. 43

Abb. 40: Dreikernige monozytoide Zelle.

Abb. 43: Zwei Histiocyten.

Histiocyten

Ähnlich wie eine Ausschwemmung von basophilen Retikulumzellen in das strömende Blut sahen wir auch eine *histiozytäre Reaktion* vorwiegend bei Geschwulstkranken. Allerdings stellt dies eher eine Ausnahme dar. Im einzelnen treten die *Histiocyten* als große, breitleibige Zellen, oft mit randständigem Kern auf. Ihr Plasma ist blaß basophil bis schiefergrau, geschummert und z. T. von kleinen azurophilen Granula durchsetzt. Die Kerne sind rund, oval bis langgestreckt und tragen zuweilen einen kleinen blauen Nukleolus (Abb. 42, 43). Pigmentmakrophagen haben wir in den Leuko-

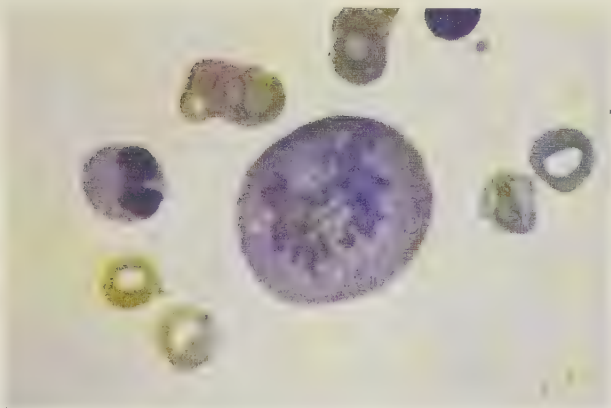


Abb. 41: Monozytenmitose.

zytenanreicherungen vermißt. Hingegen sahen wir mehrfach *Zellmakrophagen* (Abb. 44) und Histiozyten mit großen Sekretvakuolen (Abb. 45). Phagozytose ist selbst bei in Mitose befindlichen Histiozyten zu sehen (Abb. 46). Zweikernige Histiozyten kommen hie und da vor (Abb. 47).

Das Vorkommen von Histiozyten im strömenden Blut ist seit langem bekannt (3, 4, 40). Nach Gross u. Bock (12) treten bei Reizung des retikulo-histiozytären Systems vermehrt Elemente im Blut auf, die die typische Einbuchtung des Kernes der Monozyten nicht aufweisen oder deren morphologische Kriterien mehr auf lymphatische Elemente, auf Histiozyten oder Endothelien deuten. Das Erscheinungsbild der Histiozyten als große, breitleibige Zellen oder als Rundzellen kann von einem zum anderen Patienten wechseln. Histiozytäre Reaktionen lassen sich selten bei Krankheiten mit extramedullärer Hämatopoese und gelegentlich bei malignen Tumoren nachweisen.

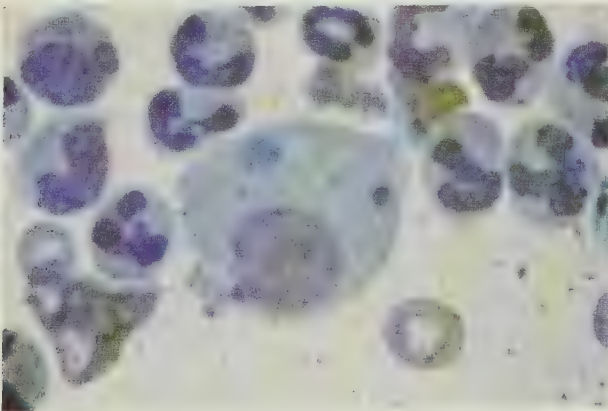


Abb. 42: Breitleibiger Histiozyt mit Einschlüssen.

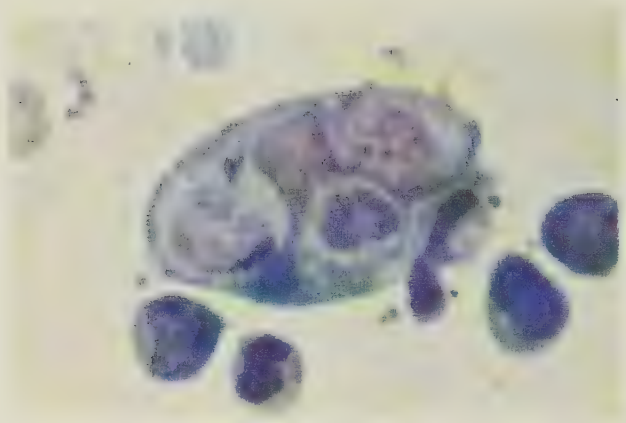


Abb. 44: Zellmakrophage.

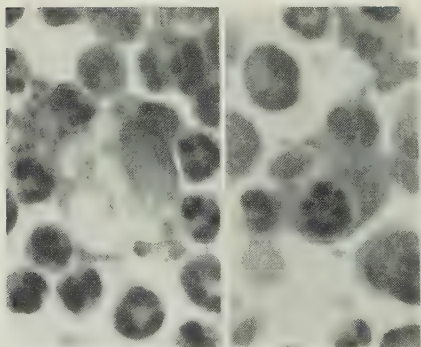


Abb. 45

Abb. 46

Abb. 45: Histiozyt mit Vakuolen.

Abb. 46: Zellmakrophage mit wahrscheinlicher Mitose.

Endothelien

Unter physiologischen Umständen sind die Endothelien das einzige Zellsystem mit einer *Exfoliation von Zellverbänden* in das strömende Blut (Abb. 48). Auffallend sind auch hier wieder die z. T. recht grobe Schummerung des Zytoplasmas, eine feine azurophile Granulation und die Gestalt der längsovalen, in der Regel auf einer Seite eingedellten, bohnenförmigen Kerne. Das Chromatin ist zart und gleichmäßig strukturiert. Vereinzelt kann man kleine solitäre, hellblaue Nukleolen erkennen (Abb. 49). Andere Endothelien weisen abgerundete, randständige Kerne auf (Abb. 50). Eine Unterscheidung dieser Zellen nach Gefäß- oder Sinusendothelien kann nur mit zytochemischen

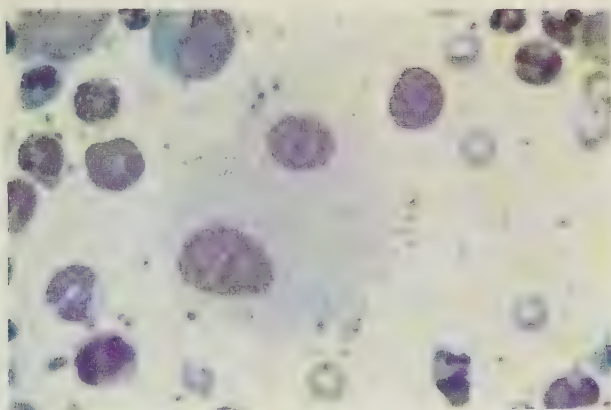


Abb. 47: Zweikerniger Histiocyt.

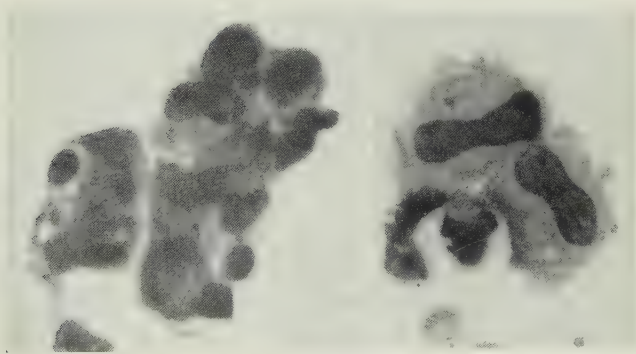


Abb. 48

Abb. 49

Abb. 48: Endothelzellverband.

Abb. 49: Endothelien mit eingedellten Kernen.

Methoden vorgenommen werden (19). Das gemeinsame Auffinden von abgerundeten Endothelien und Histiocyten in einem Bild stellt die Frage nach verwandtschaftlichen Beziehungen (Abb. 51). Wir treffen die Endothelien auch mit langen, geschwänzten Plasmaleibern an (Abb. 52). Ihre schlanke Form könnte z. T. Folge eines Ausziehungsvorgangs bei der gegenseitigen Trennung sein (Abb. 53). Mehrkernige Endothelien haben wir nicht sicher nachweisen können.

Nach den Erkenntnissen der letzten Jahre gehören Endothelien zum festen Bestandteil der Leukozytenanreicherung (2, 14, 15, 16, 32, 41). Auch wußte man, daß bei Endocarditis lenta vermehrt Endothelien im peripheren Blut kreisen. Nur selten erwähnt dagegen wird das Vorkommen großer, exfoliativ entstandener Verbände (2, 3).

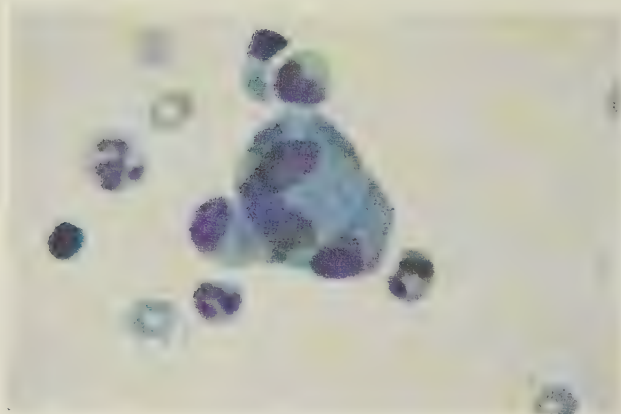


Abb. 50: Gruppe von Endothelzellen.

Bei der Auswertung unseres Untersuchungsmaterials sahen wir größere Zellverbände im Blut eines Falles einer Septikämie, bei einem Patienten mit Magenkarzinom sowie bei einem Sarkomkranken.

Tumorverdächtige Zellen

Die Ausbeute an tumorverdächtigen Zellen war sehr gering. Bei 43 Patienten mit bösartigen Geschwülsten fanden wir nur in 4 Fällen Zellen, die einen Tumorverdacht rechtfertigten. Im Blut eines Patienten mit Bronchialkarzinom fiel eine sehr große Zelle mit schummerigem Plasma, hyperchromem Kern und stark vergrößertem, entrundeten Nukleolus auf (Abb. 54).

Daneben ließ eine ebenfalls große, geschwänzte Zelle mit zartem, lädierendem Plasma und dichtem, ovalen Kern im Blut eines Patienten mit PANCOAST-Tumor an eine maligne Herkunft denken (Abb. 56). Im Blut eines Kranken mit histologisch gesichertem, großzelligen, metastasierenden

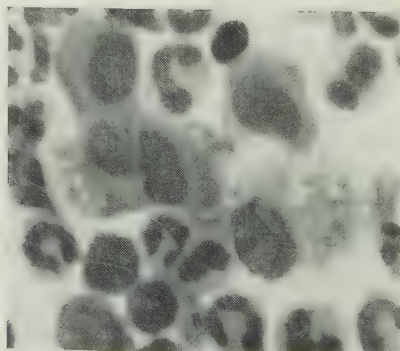


Abb. 51: Endothelien und Histiocyten in einem Blickfeld.

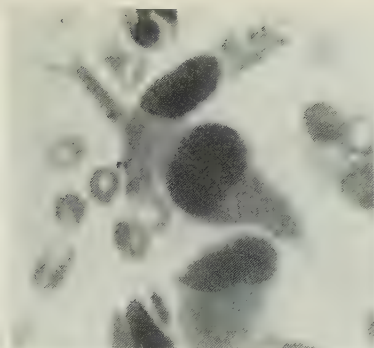


Abb. 52

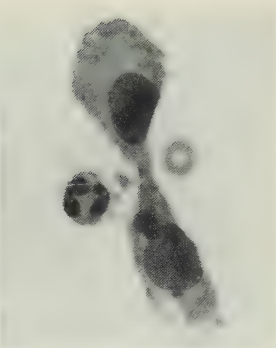


Abb. 53

Abb. 52: Geschwänzte und schlanke Endothelien.

Abb. 53: Zwei Endothelzellen mit lang ausgezogenem Zytoplasma.

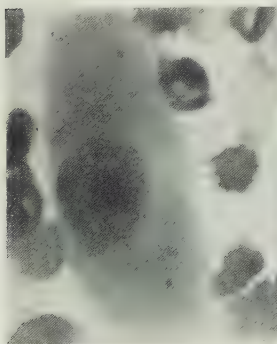


Abb. 54

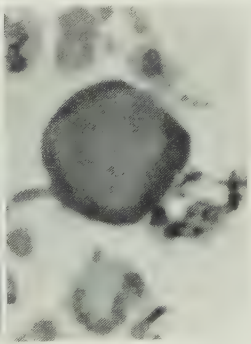


Abb. 55

Abb. 54: Tumorverdächtige Zellen mit großem Nukleolus.

Abb. 55: Tumorverdächtige Zelle mit schmalem basophilen Zytoplasma.

Bronchialkarzinom fanden wir eine angenähert runde Zelle mit sehr schmallem, intensiv basophilen Zytoplasma, äußerst zartem Kernchromatin und mehreren undeutlich abgesetzten, großen, unregelmäßig begrenzten Nukleolen (Abb. 55). Der 4. tumorverdächtige Befund betrifft einen Patienten mit metastasierendem Sarkom. Hier sahen wir u. a. eine mindestens $70\ \mu$ große Zelle mit großem, dichten Kern und balkenförmig verformtem Nukleolus (Abb. 57). Naturgemäß kann der Beweis, daß es sich bei den 4 beschriebenen Zellen tatsächlich um Tumorzellen handelt, nicht angetreten werden. Entscheidend für die zytologische Zuordnung sind u. E. die Größe und eirundete Gestalt des Nukleolus. Daneben haben wir die Größe der Zelle und des Kernes mitbewertet.

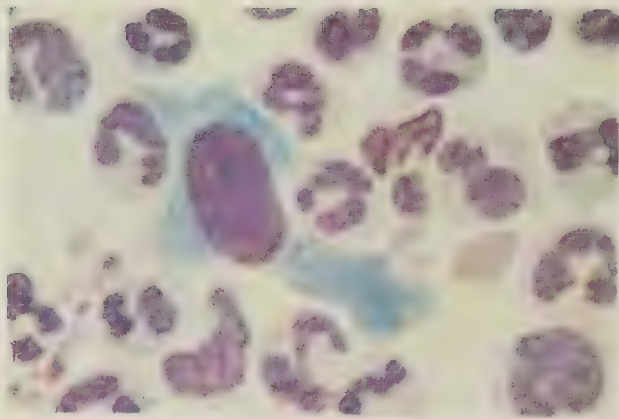


Abb. 56: Tumorverdächtige Zelle.

Zellen unbekannter Herkunft und Mitosen nichtdifferenzierbarer Zellen

Für einen kleineren Teil seltener Zellen aus Leukozytenanreicherungen reichen die morphologischen Kriterien für eine Differenzierung nicht aus. Die differentialdiagnostischen Erwägungen sind besonders schwierig bei Krebskranken mit einer retikulo-histiozytären Reaktion. Ein Musterbeispiel hierfür ist die in Abb. 58 gezeigte Zelle eines Patienten mit Bronchialkarzinom.

Der locker strukturierte Kern ist nicht sicher abgrenzbar, ein Nukleolus tritt nicht eindeutig in Erscheinung. Das Zytoplasma ist kräftig basophil. Hier muß die Entscheidung zwischen einer Tumorzelle und einem Abkömmling des retikulo-histiozytären Systems offen bleiben. Ferner boten sich uns

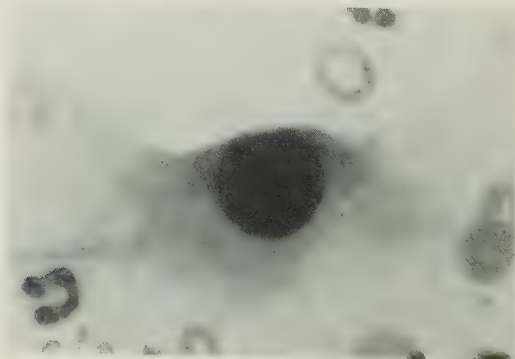


Abb. 57: Große tumorverdächtige Zelle.

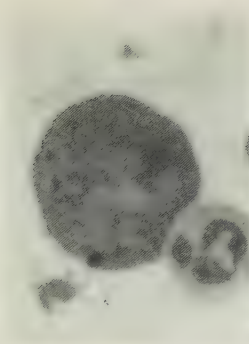


Abb. 58

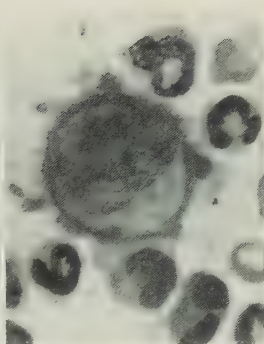


Abb. 59

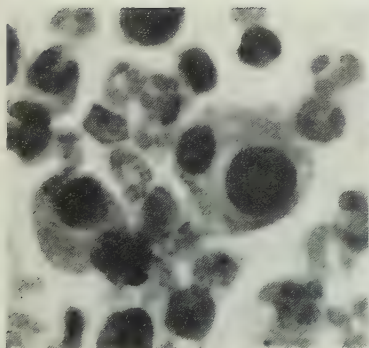


Abb. 60

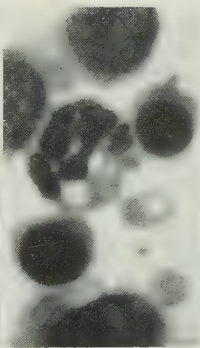


Abb. 61

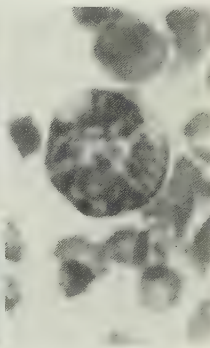


Abb. 62

Abb. 58—62: Ungewöhnliche, nicht sicher zu klassifizierende Zellen (siehe Text).

diagnostische Rätsel bei Patienten mit Osteomyelosklerose. Die in Abb. 59 gezeigte große Rundzelle könnte ihrem basophilen Plasmasaum nach einer Retikulumzelle entsprechen. Ihr wirres, scholliges Kernchromatin und der stark aufgehellte perinukleäre Plasmaanteil lassen dagegen an die regressiv veränderte Vorstufe eines Megakaryozyten denken. Bei einem Fall von chronischer Myelose sahen wir eine Zelle mit geschummertem, graublauen Zytoplasma und zwei dichten, hyperchromen, ungleich großen Kernen (Abb. 60). Der Tönung des Plasmas wegen haben wir zunächst an einen Histiocyten gedacht. Dagegen sprach jedoch die Hyperchromie der Kerne; außerdem fehlte eine histiozytäre Reaktion. Daß manche stärker regressiv veränderte Zellen nicht einzuordnen sind, liegt auf der Hand (Abb. 61).

Bei Karzinomen und chronischen Myelosen fiel uns eine Häufung mitotischer Zellen auf, die wir keinem bestimmten Zellsystem unterordnen konn-

ten. Als Beispiel ist eine große, sich teilende Zelle (Abb. 62) bei einem Fall von Bronchialkarzinom abgebildet. Eine retikuläre Reaktion fehlte. Die Zytoplasmafarbe der in Mitose befindlichen Zelle war uncharakteristisch; tumorverdächtige Zellen wurden nicht nachgewiesen.

In Abb. 63 wird ein Verband mit über 65 Zellen dargestellt, den wir in der Leukozytenanreicherung eines Patienten mit Magenkarzinom entdeckt haben. Hier handelt es sich um eine ausgesprochene Rarität. Die einzelnen Zellen sind von unterschiedlicher Größe und Form. Sie weisen einheitlich eine hohe Kern-Plasmarelation auf. Die Chromatinstruktur ist verwaschen. Nukleolen sind nicht zu erkennen. Für die beiden im strömenden Blut vorkommenden Arten von Zellverbänden, Endothelien und Tumorzellen, reichen die morphologischen Merkmale der hier abgebildeten Zellen nicht aus. Für Endothelien wären die Anisozytose und Vielgestaltigkeit der Zellen sowie die hohe Kern-Plasmarelation ungewöhnlich. Trotz des völligen Fehlens von Nukleolen handelt es sich u. E. wahrscheinlich um Tumorzellen.

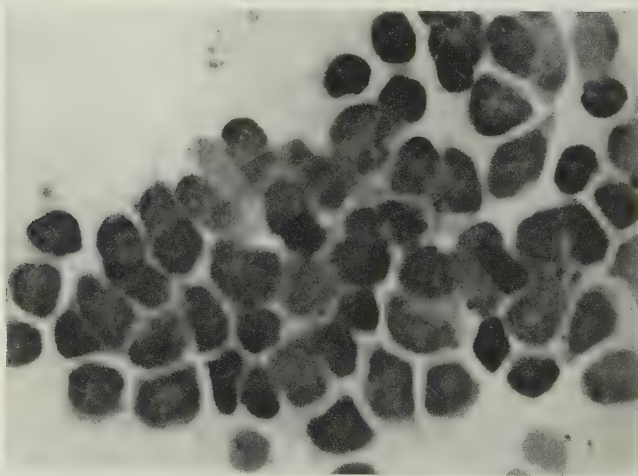


Abb. 63: Zellreicher Verband ungewöhnlicher Zellen mit Tumorverdacht.

Diskussion zum Problem des Tumorzellnachweises

Die Tumorzellausbeute in unseren Untersuchungen war gering. In der Literatur finden sich weit streuende Zahlenangaben. Eine eingehende Diskussion über das Problem des Tumorzellnachweises im zirkulierenden Blut bietet ein von den *Acta cytologica* 1965 publiziertes Symposium (25).

HERBEUVAL (16) hat bei Blutentnahme aus der Kubitalvene bei Tumoren eine Ausbeute von weniger als 10 % angegeben. Bei Gewinnung des Blutes aus den Gefäßen, die das Tumorgebiet drainieren, berichtete er positive Zellbefunde in 22 % der Fälle. Schon 1955 fand sich von ENGELL (s. Lit.) (6) ein Hinweis, daß Tumorzellen im Blut zirkulieren können, so daß sie auch ohne örtliche, distal der Blutentnahmestelle

gelegene Metastasen nachweisbar sind. PRUITT u. Mitarb. (27) weisen auf die Schwierigkeit ihrer Unterscheidung von Megakaryozyten, Endothelien, abnormen oder unreifen Knochenmarkszellen hin. Sie weisen Tumorzellen angeblich sicher in 30 % der Fälle nach. Bei 187 Patienten mit bekannten oder vermuteten intrathorakalen Neoplasmen konnten MELAMED u. Mitarb. (22) keine Zusammenhänge zwischen der Anzahl der Karzinomzellen, Operation, Metastasen und Prognose feststellen. Demgegenüber beschrieben ROBERTS u. Mitarb. (28) ein Ansteigen der Tumorzellen im Blut bei operativen Eingriffen. Ihre Zellbefunde schwankten zwischen 16,7 % bei operablen und 31 % bei inoperablen Karzinomkranken. Ähnliche Zahlen fand SOOST (35) mit 33 % Tumorzellen im strömenden Blut. Nach Berichten an anderer Stelle (36) fand er in 45 von 136 Fällen von Genitalkarzinom der Frau positive Befunde. GASTPAR (10) konnte bei 56 von 70 Patienten mit malignen Tumoren im Hals-Nase-Ohrenbereich Tumorzellen nachweisen. MOORE u. SANDBERG (23) untersuchten das Blut bei Patienten mit fortgeschrittenen Malignomen oder aus tumor-nahen Venen und wiesen auf die Möglichkeit einer Verwechslung von unreifen Plasmazellen in Mitose mit Tumorzellen in Teilung hin. Im ähnlichen Sinne äußern sich KUPER u. Mitarb. (18). SCHULTIS u. Mitarb. (40) sprechen von einer durchschnittlichen diagnostischen Ausbeute von 25—30 % nachweisbarer Tumorzellen im peripheren Blut. Der Zellgehalt in den vom Tumor abführenden Venen sei höher als in der Peripherie. Die Ergebnisse von STOFBERG (41) mit 2 von 50 positiven Zellbefunden von Tumorzellen bei Patienten mit fortgeschrittenen Karzinomen sowie die Resultate einiger anderer Autoren (18, 20) waren auffallend niedrig. Leukozytenkonzentrate enthielten relativ oft atypische, aber nicht maligne Zellen. Sehr wahrscheinlich seien die atypischen Zellen bisher mit Tumorzellen verwechselt worden (41). Nach SPRIGGS (37) sind in den amerikanischen und dänischen Serien zu viele Tumorzellen diagnostiziert worden. Vorsicht und Kritik an den verschiedenen Statistiken seien nötig.

Ziemlich übereinstimmend in der Literatur sind die Angaben über Tumorzellbefunde und Prognose der Erkrankung. Zahlreiche Autoren deuten das Auftreten von Tumorzellen im Blut als Zeichen einer schlechten Prognose (1, 3, 27). So ist GRUNZE (13) der Ansicht, daß der Nachweis epithelialer Geschwulstzellen im peripheren Blut nur bei schwerster Karzinomatose möglich ist. MOORE u. SANDBERG (23) sahen Krebszellen hauptsächlich bei Patienten mit vorgeschrittenen Malignomen. HENNING, WITTE u. BRESSEL (15) fanden positive Tumorzell Diagnosen nur bei inkurablen, metastasierenden Karzinomen. In neueren Untersuchungen wiesen ROLL u. MISSMAHL (30) bei 67 von 233 Patienten mit gesicherten malignen Tumoren Krebszellen im strömenden Blut nach. Das häufige Auftreten von Tumorzellen erklären sie mit dem progredienten Verlauf der Geschwulstkrankheit, wobei möglicherweise ein Abbau der Tumorzellen nicht mehr stattfinden könne. Alle betr. Patienten seien innerhalb eines halben Jahres gestorben.

Im übrigen konnten wir bei unseren Untersuchungen des Blutes von Karzinompatienten außer einer unspezifischen Linksverschiebung sowie einige Male vermehrt auftretenden eosinophilen Leukozyten und Megakaryozytenkernfragmenten neben den ebenfalls nicht als karzinomspezifisch anzusehenden retikulo-histiozytären Reaktionen keine Auffälligkeiten feststellen. Insgesamt ist u. E. die Zeit für eine systematische und routinemäßig angewandte Tumorzellsuche im strömenden Blut noch nicht reif. Der zunächst zur Schau getragene Optimismus, gerade in den angelsächsischen Ländern, ist einer sachlichen Kritik gewichen. Die amerikanischen (23), englischen (37) und deutschen (15) Autoren sind sich heute darüber einig, daß allenfalls bei Krebskranken mit metastasierenden Geschwülsten in

fortgeschrittenen Verlaufsstadien tumorverdächtige Zellen entdeckt werden können. Bezogen auf die Gesamtzahl der Krebskranken, beträgt dieser Anteil nicht mehr als 2—3 %. Aus diesen Gründen bleibt die Tumorzellsuche im peripheren Blut zunächst ein wissenschaftliches Problem ohne praktische Bedeutung.

Immerhin hat das Bestreben zur Suche nach Tumorzellen im Blut den Anstoß zu einer weltweiten Erforschung der zellulären Zusammensetzung des strömenden Blutes geführt und uns neue Erkenntnisse geschenkt.

Literatur

- 1) ALEXANDER, R. F. u. A. I. SPRIGGS: J. clin. Path. **13** (1960), 414 — 2) BRESSEL, D.: Folia haemat., N. F. **8** (1963), 97 — 3) BRESSEL, D. u. S. WITTE: Ärztl. Lab. **8** (1962), 58 — 4) BRESSEL, D. u. S. WITTE: Zyto- und Histochemie in der Haematologie, 145. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962 — 5) EFRATI, P. u. L. ROSENSZAJN: Blood **16** (1960), 1012 — 6) ENGELL, H. C.: Acta chir. scand., Suppl. 201 (1955) — 7) ENGELL, H. C.: Ann. Surg. **149** (1959), 457 — 8) ERIKSSON, O.: Cancer **15** (1962), 171 — 9) FLEISCHER, J.: Folia haemat., N. F. **4** (1962), 409 — 10) GASTPAR, H.: Münch. med. Wschr. **103** (1961), 2416 — 11) GRAEBER, F.: Ther. Ber. **5** (1960), 247 — 12) GROSS, R. u. H. E. BOCK: Klin. d. Gegenw. **10** (1960), 567 — 13) GRUNZE, H.: Klinische Zytologie der Thoraxkrankheiten. Enke, Stuttgart 1955 — 14) HAEMMERLI, G. u. P. STRÄULI: Klin. Wschr. **41** (1963), 396 — 15) HENNING, N., S. WITTE u. D. BRESSEL: Med. Klin. **56** (1961), 623 — 16) HERBEUVAL, R., H. HERBEUVAL u. J. DUHEILLE: Triangel **6** (1963), 47 — 17) KRICK, W.: Folia haemat., N. F. **7** (1963), 1 — 18) KUPER, S. W. A., J. R. BIONALL u. E. D. LUCKCOCK: Lancet **1** (1961), 852 — 19) LENNERT, K.: Hb. spez. path. Anat. Hist. I/3. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961 — 20) LUDWIG, J.: Oncologia (Basel) **14** (1961), 174 — 21) MALMGREN, R. A., J. C. PRUITT, P. R. DELVECCHIO u. J. F. POTTER: J. nat. Cancer Inst. **20** (1958), 1203 — 22) MELAMED, M. R., E. E. CLIFFTON u. S. H. SEAL: Amer. J. clin. Path. **37** (1962), 381 — 23) MOORE, G. E. u. A. A. SANDBERG: Acta Un. int. Cancr. **16** (1960), 405 — 24) MOORE, G. E., A. A. SANDBERG u. J. R. SCHUBARG: Ann. Surg. **146** (1957), 580 — 25) NADEL, E. M.: Acta cytol. (Philad.) **9** (1965), 1 — 26) POOL, E. H. u. G. R. DUNLOP: Amer. J. Cancer **21** (1934), 99 — 27) PRUITT, J. C., A. W. HILBERG, R. P. MOREHEAD u. H. F. MENGOLI: Surgery **114** (1962), 179 — 28) ROBERTS, S. S., A. L. WATNE, R. G. McGRATH, E. A. McGREW u. W. H. COLE: Arch. Surg. **76** (1958), 334 — 29) ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. 3. Aufl., Georg Thieme, Stuttgart 1960 — 30) ROLL, A. u. H. P. MISSMAHL: Med. Klin. **59** (1964), 47 — 31) RUEFF, F.: Die Zellelektrophorese in der klinischen Diagnostik. J. F. Lehmann, München 1964 — 32) SANDBERG, A. A., G. E. MOORE u. J. R. SCHUBARG: J. nat. Cancer Inst. **22** (1959), 555 — 33) SEAL, S. H.: Cancer **12** (1959), 590 — 34) SOOST, H.-J. u. H. MAD: Krebsarzt **15** (1960), 273 — 35) SOOST, H.-J.: Ärztl. Lab. **4** (1961), 130 — 36) SOOST, H.-J.: Geburtsh. u. Frauenheilk. **21** (1961), 1 — 37) SPRIGGS, A. I.: Proc. roy. Soc. Med. **53** (1960), 169 — 38) SPRIGGS, A. I. u. R. F. ALEXANDER: Nature **188** (1960), 863 — 39) SCHWARZ, S. E.: Amer. J. clin. Path. **24** (1954), 629 — 40) SCHULTIS, K., G. MAGGI u. A. BIRKALVI: Med. Welt, Nr. 53 (1964), 746 — 41) STOFBERG, A. M. M.: Acta haemat. **29** (1963), 65 — 42) WÜST, G.: Folia haemat., N. F. **8** (1963), 421.

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. med. S. WITTE, Med. Univ.-Klinik, 852 Erlangen, Krankenhausstr. 12

Lebenslauf

Am 6.4. 1937 wurde ich, Barbara Regine Czagány, geborene Reschke, als Tochter des Schriftleiters Rolf Reschke und seiner Ehefrau Marion, geborene d'Avance, in Berlin-Charlottenburg geboren.

Nach der Evakuierung wurde ich in Triesdorf/Mfr. im Jahre 1943 eingeschult, anschließend besuchte ich bis 1947 die Volksschule in Neustetten bei Ansbach. In den folgenden Jahren besuchte ich die Städtische Theresien-Oberrealschule für Mädchen in Ansbach, wo ich im Juni 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1956/57 begann ich das Studium der Medizin an der Universität in Erlangen, wo ich am 20. Juli 1959 die ärztliche Vorprüfung bestand. Nach je einem Semester an der Freien Universität in Berlin und an der Universität in Kiel setzte ich mein klinisches Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen fort. Hier bestand ich im April 1963 die ärztliche Prüfung.

